



Forbedret optagelse af lægemidler i organismen computeren viser vejen

Larsen, Simon Birksø; Jørgensen, Flemming Steen; Olsen, Lars

Published in:
Dansk Kemi

Publication date:
2010

Document version
Også kaldet Forlagets PDF

Citation for published version (APA):
Larsen, S. B., Jørgensen, F. S., & Olsen, L. (2010). Forbedret optagelse af lægemidler i organismen: computeren viser vejen. *Dansk Kemi*, 91(6/7), 18-20.

Forbedret optagelse af lægemidler i organismen – computeren viser vejen

Med medicinalkemiske computermodeller kan man meget hurtigt undersøge store virtuelle samlinger af molekyler for interessante egenskaber. Her fortæller vi om, hvordan vi med brug af sådanne modeller har opdaget nye kemiske forbindelser, der på sigt kan forbedre lægemiddelloptagelse via peptidtransportere i mavetarmkanalen

Af Simon Birksø Larsen, Flemming Steen Jørgensen og Lars Olsen, Biostructural Research, Institut for Medicinalkemi, Det Farmaceutiske Fakultet, Københavns Universitet

I moderne lægemiddelforskning spiller computerbaserede metoder en meget vigtig rolle. Evnen til at gennemse enorme samlinger af virtuelle molekyler for interessante egenskaber gør computeren til medicinalkemikerens nære allierede.

Blandt et næsten uendeligt antal molekyler hjælper computeren os til at identificere de allermest lovende kemiske forbindelser. På den måde kan begrænsede ressourcer (tid og penge) anvendes på at undersøge netop de stoffer eksperimentelt, som forventes at have de ønskede egenskaber.

I denne artikel fortæller vi om, hvordan vi med succes har anvendt computeren i et farmaceutisk projekt, der sigter mod at forbedre mulighederne for lægemiddelstoffers optagelse i organismen – et særdeles vigtigt aspekt i udviklingen af nye lægemidler. Vi forklarer, hvordan vi udvikler modeller, der giver computeren



Faktaboks 1: Lipinski's Rule of 5

I 1997 publicerede Lipinski og kolleger en interessant analyse af sammenhængen mellem molekylers egenskaber og deres evne til at blive optaget i organismen. Disse simple regler har siden haft stor betydning for medicinalkemisk forskning.

I sin enkelhed siger reglerne, at dårlig optagelse ofte ses for molekyler, hvor to eller flere af følgende kriterier er opfyldt:

Antal hydrogen-bindingsdonorer > 5
Antal hydrogen-bindingsacceptorer > 10
Molekylvægt > 500 g/mol
log P > 5

P er fordelingskoefficienten mellem en organisk fase og en vandig fase. Høj log P indikerer stor fedtopløselighed.

Bemærk, at reglerne ikke gælder for molekyler, der optages via transportproteiner.

Betegnelsen for reglerne skyldes, at tallet 5 eller et multiplum deraf indgår i dem alle.

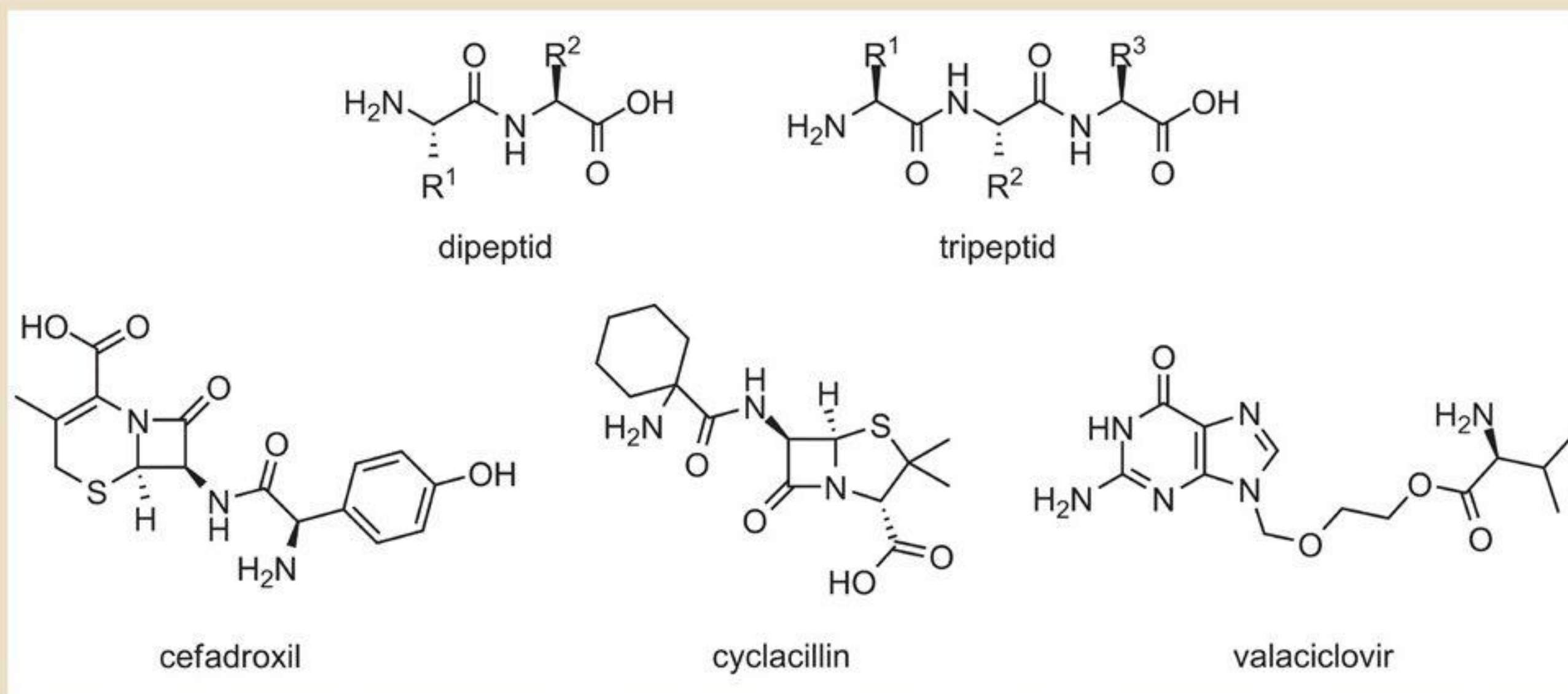
medicinalkemisk "forståelse", som kan udnyttes i jagten på nye biologisk aktive molekyler.

Lægemiddelabsorption og peptidtransportere

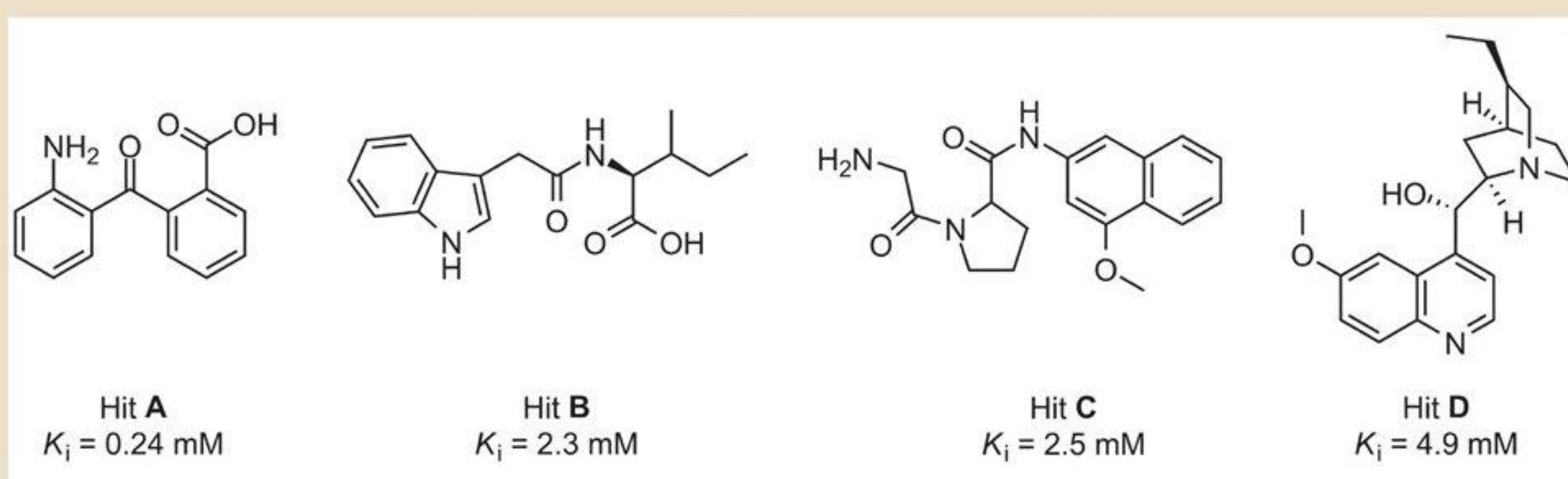
Når vi har skyllet en tablet ned med et glas vand, vil den hurtigt gå i stykker i mavesækken. Men først når selve lægemiddelstoffet er blevet opløst, har det aktive molekyle mulighed for at trænge fra mavetarmkanalen videre over i blodet. Via blodet fordeles lægemiddelstoffet rundt til kroppens organer og udøver sin effekt på virkningsstedet (f.eks. i hjernen).

For et molekyle er dette imidlertid en ganske udfordrende rejse. Gennem tusinder af år har vores krop specialiseret sig i nøje at regulere, hvilke stoffer, der får lov at komme ind i organismen. Dette virker fornuftigt i forhold til at begrænse optagelsen af skadelige molekyler (f.eks. giftstoffer). Men i lægemiddeludvikling er mavetarmkanalens barrierer desværre forhindringer, der skal overvindes for at sikre stoffets biotilgængelighed.

Mavetarmkanalen (primært tyndtarmen) er kroppens absorptionsorgan. Det er herfra, de fleste lægemidler finder vej ind i



Figur 1. Eksempler på lægemidler, som optages via hPEPT1-peptidtransporteren i tyndtarmen. Cefadroxil og cyclacillin er β -laktamantibiotika af cefalosporin- hhv. penicillintypen. Valaciclovir er et antiviralt middel mod herpes virus. Stoffet er et peptidlignende prodrug, som først i organismen omdannes til den aktive form. Til sammenligning ses øverst i figuren generelle formuler for di- og tripeptider, der også transporteres af hPEPT1.



Figur 2. Nye kemiske stoffer, der vekselvirker med hPEPT1. Stofferne er opdaget gennem en virtuel screening, hvor vi anvendte vores computermodel til at forudsige den biologiske aktivitet. For hPEPT1, der er et lav-affinitetssystem, betragtes bindingskonstanter (K_i) $< 0,5$ mM som høj affinitet. Hit A har derfor høj affinitet til hPEPT1, mens de øvrige hits har medium affinitet.

organismen. Tyndtarmens celler er placeret tæt op ad hinanden, og de tillader kun i meget begrænset omfang molekyler at passere mellem dem. Derfor må lægemiddelmolekyler passere gennem cellemembranerne, der består af et lipid (fedt) dobbeltlag. Altså må lægemiddelstoffet have en passende grad af fedtopløselighed. Ofte benytter medicinalkemikeren sig af tommelfingerregler for at give stoffet de rigtige fysisk-kemiske egenskaber (faktaboks 1).

I selve cellemembranerne findes der dog også transportproteiner, der fragter udvalgte stoffer over på den anden side (ofte næringsstoffer, som ikke selv kan passere cellemembranen). I farmaceutisk sammenhæng er de såkaldte peptidtransportere meget vigtige. I forbindelse med fordøjelsen af protein fra føden er disse transportere (især den såkaldte hPEPT1-transporter) ansvarlig for optagelse af di- og tripeptider, der fremkommer under den enzymatiske proteinnedbrydning.

Lægemidler, der kemisk set minder om di- eller tripeptider, vil også blive optaget i organismen via hPEPT1. Dette er tilfældet for eksempelvis visse antibiotika og antivirale lægemidler (figur 1).

Således formår hPEPT1 at transportere et bredt udvalg af kemiske stoffer. Til gengæld er affiniteten til transporteren relativt lav, og bindingskonstanterne (K_i) er som regel i det millimolære område. For hPEPT1 anses $K_i < 0,5$ mM for at være høj affinitet.

Computermodel til hurtig forudsigelse af binding og opdagelse af nye stoffer

For at muliggøre rationelt design af lægemidler og prodrugs, som målrettet optages via hPEPT1, er det nødvendigt med en dybere indsigt i sammenhængen mellem molekylernes struktur og deres

vekselvirkning med transporteren. I medicinalkemi er samlebetegnelsen for denne type studier *struktur-aktivitetsrelationer* (SAR). Gennem computermodeller kan SAR også beskrives på kvantitativ vis. Dette kaldes QSAR (eng. *quantitative structure-activity relationships*). Grundprincipperne for QSAR er beskrevet i faktaboks 2.

Det lykkedes os at opstille en god QSAR-ligning, som hurtigt kan forudsige hPEPT1-bindingsaffiniteten for nye molekyler, der endnu ikke er testet i laboratoriet. Derfor besluttede vi os for at udnytte modellen i en såkaldt virtuel screening af mere end 17.000 kommercielt tilgængelige stoffer. Vi lod ganske enkelt computermodellen forudsige den biologiske aktivitet mht. hPEPT1 for alle molekylerne. Screeningen kaldes virtuel, fordi molekylerne ikke findes på hylderne i laboratoriet, men derimod på computerens harddisk.

Efter ganske få timer havde computeren foreslået 12 nye forbindelser (virtuelle hits), som forventedes at vekselvirke med hPEPT1. Vi indkøbte stofferne, og vores samarbejdspartnere testede dem i celler med hPEPT1. Det viste sig, at 4 af stofferne bandt til transporteren med

DENIOS.
MILJØBESKYTTELSE OG SIKKERHED

MILJØBESKYTTELSE & SIKKERHED

Faret vil i paragraf-junglen ?

Er du også træt af, at lede forgæves efter regler, standarder, forskrifter og bestemmelser?

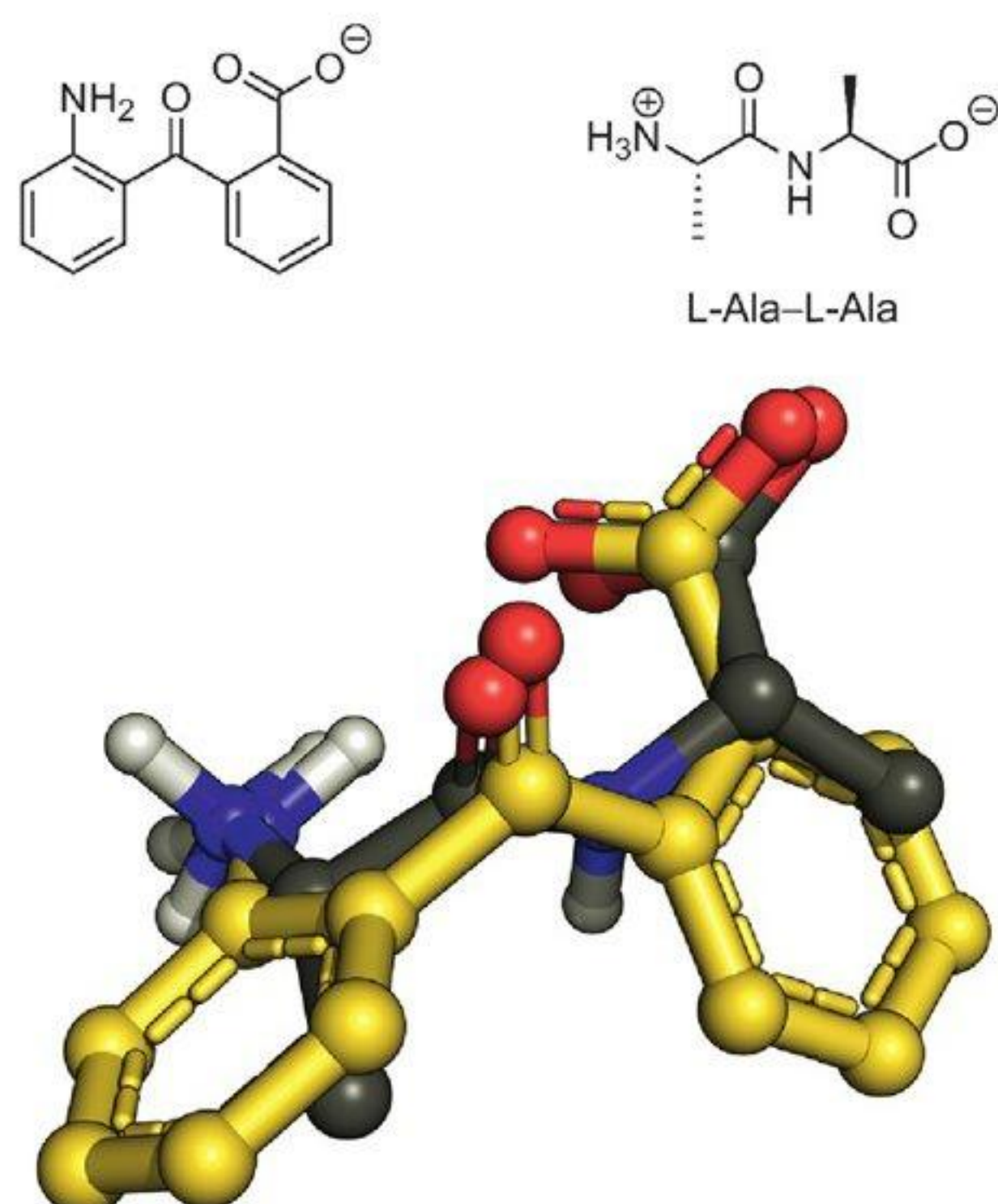
DENIOS har gjort det nemmere for dig!

Med "Den Professionelle Miljøguide" er disse samlet og beskrevet på en enkel og overskuelig måde.

BESTIL MED DET SAMME!



Bestil den GRATIS idag på
telefon 76 24 40 80 (normal pris 79,- DKK)



Figur 3. Sammenligning af konformationer for benzophenon-derivatet (gule kulstofatomer) og dipeptidet Ala-Ala (sorte kulstofatomer). Bemærk hvordan tilsvarende grupper i de to molekyler rumligt befinder sig de samme steder. hPEPT1 formodes at genkende benzophenon-derivatet i kraft af dipeptidligheden.

medium til høj affinitet (figur 2). En succesrate på 4 ud af 12 er særdeles tilfredsstillende – og meget højere, end hvis man blot tester tilfældigt udvalgte forbindelser.

Ser man på de nye forbindelser i figur 2, er det tydeligt, at hits **B** og **C** har peptidlignende karakter, der gør, at de genkendes af hPEPT1. Derimod er den peptidlignende karakter for hits **A** og **D** ikke så indlysende. Det er værd at bemærke, at hit **D** (hydrokinidin) anvendes som et lægemiddel til rytmeforstyrrelser i hjertet.

Som et muligt udgangspunkt for nye medicinalkemiske projekter er hit **A** særlig attraktivt. Dette stof udviste samtidig den højeste affinitet af de nye forbindelser. Hit **A** er et simpelt benzophenon-derivat, og kemisk syntese af nye analoger, der kan forbedre vores SAR-forståelse af hPEPT1, er ligetil.

Carbonylgruppen mellem de to phenylringe i hit **A** synes at gøre det ud for peptidbindingen i dipeptider. Endvidere genfindes amino- og carboxylsyregruppen i peptiderne. For at vurdere hypotesen om, at hit **A** genkendes af hPEPT1 i kraft af stoffets lighed med et dipeptid, overlejrerede vi en lavenergi konformation med dipeptidet Ala-Ala (figur 3).

Som det fremgår af figuren, kan de to molekylers kemiske

Faktaboks 2: QSAR

I kvantitative struktur-aktivitetsrelationer (QSAR) forsøger man at opstille en ligning mellem den biologiske aktivitet og molekylernes struktur:

$$\text{Biologisk aktivitet} = f(\text{molekylets struktur})$$

hvor f er en matematisk funktion.

Molekyler kan ikke uden videre indsættes i en ligning. Derfor skal repræsentationen først formaliseres. Det sker ved at beregne såkaldte deskriptorer, som er tal, der beskriver egenskaber af et molekyle. Eksempler på simple deskriptorer er antallet af kulstofatomer i molekylet, antal ringe, volumen og overfladeareal.

Selve ligningen findes ved at anvende kemometriske metoder, såsom *partial least squares* (PLS) regression.

grupper rumligt bringes til overvejning. Dette understøtter, at hPEPT1 genkender benzophenon-derivatet i kraft af ligheden med et dipeptid.

Status og perspektiver

I artiklen har vi vist, hvordan computere med succes kan anvendes til at belyse medicinalkemiske problemstillinger. Computermødelles har givet indsigt i SAR for den farmaceutisk vigtige hPEPT1-peptidtransporter, og modellerne har vist sig at være et nyttigt redskab i opdagelsen af nye kemiske forbindelser, der vekselvirker med transportproteinet.

Resultaterne er foreløbigt publiceret i to videnskabelige artikler [1,2]. Selvom projektet er grundforskning, der lærer os nyt om hPEPT1-transportproteinet, bliver det spændende at følge de fremtidige undersøgelser – især med hensyn til, om resultaterne på sigt vil kunne bidrage til udviklingen af fremtidens lægemidler.

E-mail-adresse

Simon Birksø Larsen: sb@farma.ku.dk

Referencer

1. Larsen et al., J. Chem. Inf. Model. **2008**, 48, 233.
2. Larsen et al., ChemMedChem **2009**, 4, 1439.

Nyt om...

... Bisphenol A og polycarbonat

Polycarbonater har igen været i søgelyset pga. mistanke om, at de talrige drikkevandsbeholdere af polycarbonat, som man har stående rundt om på kontorer og mange andre steder, lækker bisphenol A eller 4,4'-(propan-2,2-diyl)diphenol, som er Kemisk Ordbogs navn for stoffet. Dette har længe været kendt for at have østrogen virkning. Polycarbonaterne har tidligere været i

søgelyset bl.a. pga. det samme problem med sutteflasker til børn. Polycarbonater fremstilles ud fra bisphenol A og phosgen som vist nedenfor.

Carl Th.

Soundbite molecules, *Education in Chemistry*, maj 2009.

